

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

ANNEE 1970

N°

998

THESE

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'Etat

PAR

— Yves FRYDA.

né le 21 Fevrier 1943 à Oran (Algerie)

Présentée et soutenue publiquement le

1970

L'HEPATITE POST TRANSFUSIONNELLE
EN CHIRURGIE CARDIO-VASCULAIRE

Fréquence de cette complication chez les opérés et dépistage du virus chez les donneurs de sang par la recherche de l'antigène Australia.

— PRESIDENT: M^r Ch. DUBOST, PROFESSEUR —

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

ANNEE 1970

N°

THESE POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'Etat
PAR

— *Yves FRYDA.*

né le 21 Fevrier 1943 à Oran (Algerie)

Présentée et soutenue publiquement le

1970

L'HEPATITE POST TRANSFUSIONNELLE EN CHIRURGIE CARDIO-VASCULAIRE

Fréquence de cette complication chez les opérés et dépistage du virus chez les donneurs de sang par la recherche de l'antigène Australia.

— PRESIDENT: *Mr Ch. DUBOST*, PROFESSEUR —



A MA MERE
A MON PERE

pour tout ce qu'ils ont fait pour
moi.

A MA FEMME
A MA FILLE

en témoignage de mon amour et
de mon affection.

A MA FAMILLE
A MES AMIS

avec ma sympathie.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550203_0018

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CH. DUBOST

PROFESSEUR DE CLINIQUE DE CHIRURGIE CARDIO-VASCULAIRE
A LA FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Chevalier de la Légion d'Honneur

qui nous a fait l'honneur de pré-
sider cette thèse.

En hommage très respectueux.

A MONSIEUR LE DOCTEUR B. JAULMES

HEMOBIOLOGISTE DES HOPITAUX DE PARIS

qui nous a inspiré le sujet de
cette thèse et guidés de ses
conseils et de son expérience.

A MADemoisELLE LE DoCTEUR E. TERRIER

HEMOBIOLOGISTE DES HOPITAUX DE PARIS

qui nous a guidés dans notre
travail et nous a fait bénéfi-
cier de son savoir.

Nous la remercions tout spé-
cialement.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR J.P. SOULIER

DIRECTEUR DU CENTRE NATIONAL DE TRANSFUSION SANGUINE

qui nous a initiés aux techniques de l'immuno-diffusion et de la fixation du complément appliquées à la recherche de l'antigène Australia, et qui a bien voulu vérifier la valeur de l'anticorps vis-à-vis ce cet antigène.

En témoignage de notre profond respect.

A MADAME LE DOCTEUR M. SIMONNEAU
ADJOINT HEMOBIOLOGISTE

A MADAME LE DOCTEUR Y. GAUDY
MEDECIN BIOLOGISTE

A MONSIEUR LE DOCTEUR G. TRAN

qui ont apporté une part active
à la recherche de l'antigène
Australia et de l'anticorps
chez les donneurs de sang.

A MES MAITRES

Monsieur le Professeur Ag. MALLET

Monsieur le Docteur LIEVRE

Monsieur le Docteur PETIT

en respectueux hommage.

A TOUT LE PERSONNEL DU LABORATOIRE
DU CENTRE DE TRANSFUSION DE L'HOPITAL BROUSSAIS

A TOUT LE PERSONNEL DU SECRETARIAT
DE CE CENTRE

pour leur contribution.

P L A N

oooooooooooooooo

INTRODUCTION

I - HISTORIQUE

II - MATERIEL D'ETUDE

1) MALADES OPERES EN CHIRURGIE CARDIO-VASCULAIRE DURANT L'ANNEE 1969

a) Malades opérés sous CEC

- . type d'appareils
- . remplissage
- . nombre de malades

b) Malades opérés sans CEC

2) DONNEURS DE SANG

a) Nombre de donneurs testés

b) Techniques employées pour dépistage de l'antigène

- . immuno-diffusion
- . fixation du complément
 - micro-méthode
 - macro-méthode

III - RESULTATS

1) FREQUENCE DE L'HEPATITE

- Réponses négatives
- Réponses douteuses
- Réponses positives : hépatites transfusionnelles probables et répartition :
 - . selon âge
 - . selon sexe
 - . selon type d'intervention
 - . selon type de transfusion
 - . selon durée d'incubation
 - . selon l'évolution
 - . recherche d'une cause prédisposant à une atteinte grave

2) FREQUENCE DE L'ANTIGENE CHEZ LES DONNEURS

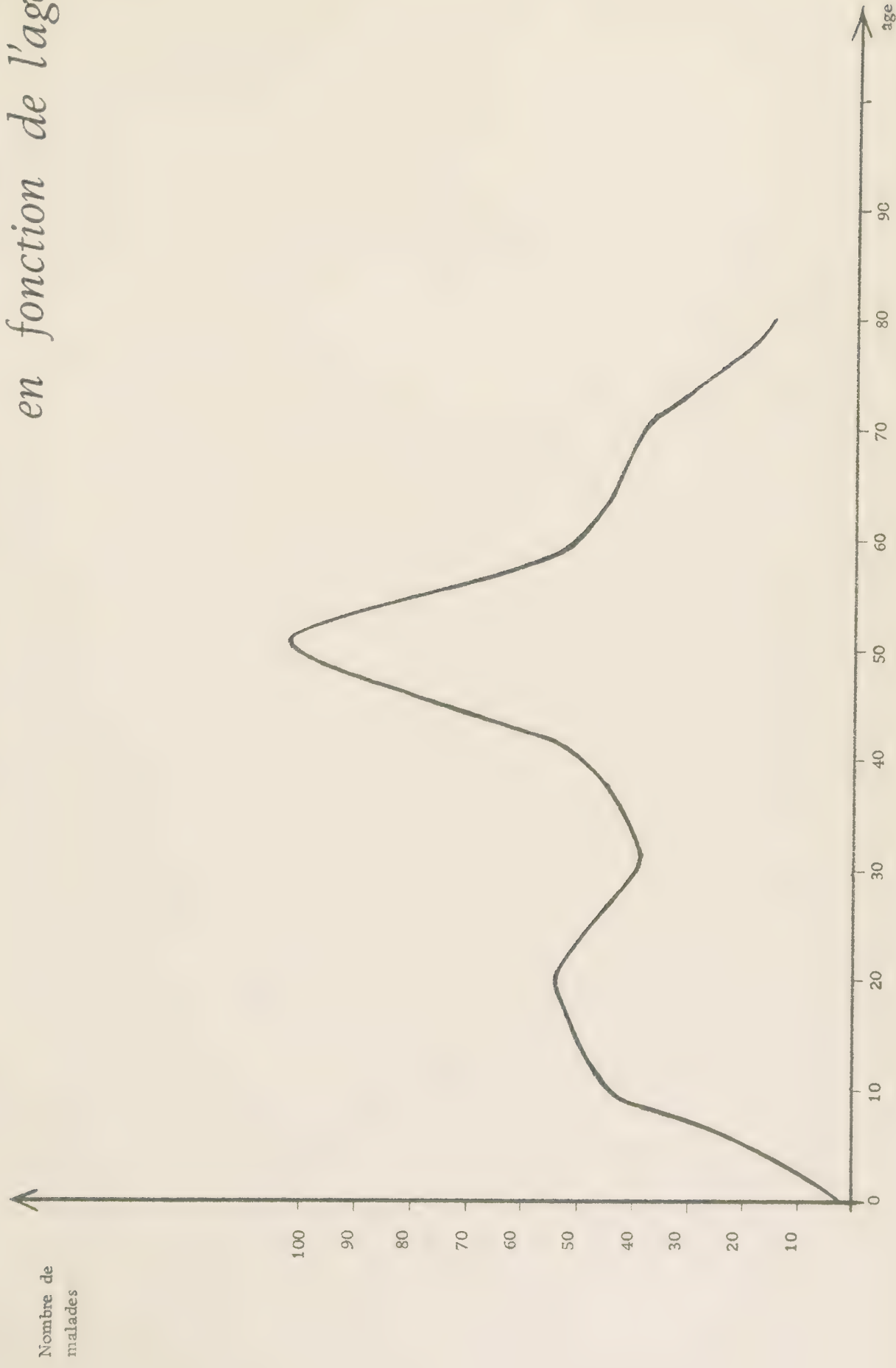
IV - DISCUSSION

1) DE LA FREQUENCE DES ICTERES

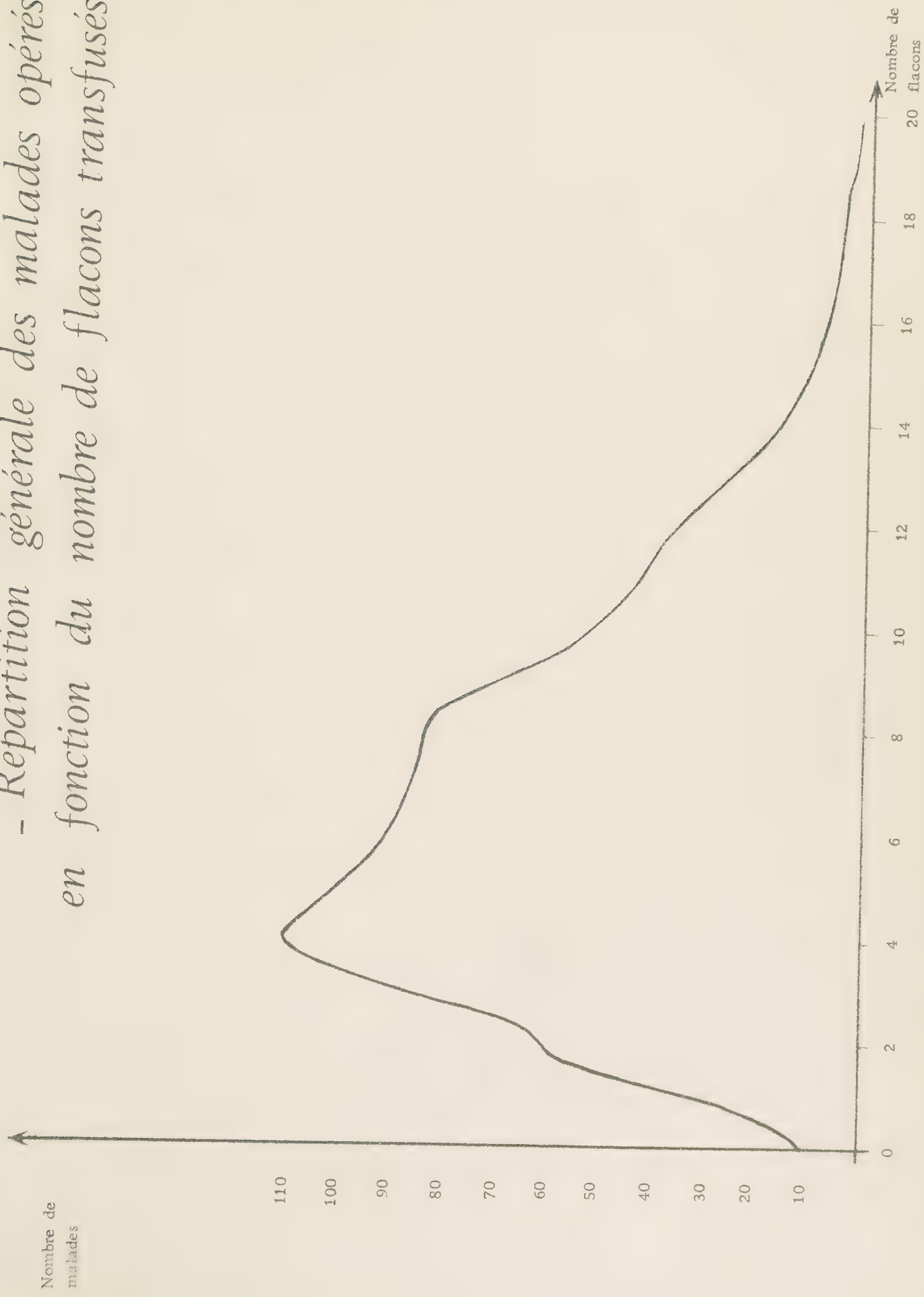
2) DE LA RECHERCHE DE L'ANTIGENE ET DE L'ANTICORPS

V - CONCLUSIONS

Répartition générale des malades opérés en fonction de l'âge



*- Répartition générale des malades opérés
en fonction du nombre de flacons transfusés*



	Cardiopathies congénitales	Total 243	Cardiopathies acquises	Total 297
AVEC CEC 518	CIA { suturé	72	I A ou R A starr	135
	{ patch	21	I M ou M M	105
	CIV { suturé	12	Divalves	35
	{ patch	18	Trivalves	9
	Fallot	19	Tricuspidé	4
	Trilogie	8	Pericardites	1
	Pentalogie	2	Divers	14
	Transposition	2		
	Canal Atrio ventriculaire	9		
	Rétrécissement aortique	10		
	Sténose pulmonaire	26		
	Ebstein	3		
	Rétrécissement mitral	1		
	Divers	1		
		----- 215		----- 303
SANS CEC 222	Fallot (Blalock)	10	Pace maker	73
	Canal Ar	14	R M	18
	Sténose pulmonaire	4	Pericardite	2
			Ventricule gauche	5
			Aorte	11
			Vasculaire	11
			Divers	29
		----- 28		----- 199

I N T R O D U C T I O N

oooooooooooooooooooooooooooo

La chirurgie cardio-vasculaire nécessite le plus souvent la transfusion d'une grande quantité de sang (ou de ses dérivés) provenant de plusieurs donneurs différents. Les complications liées à l'acte transfusionnel, en particulier l'hépatite virale, devraient théoriquement croître avec le nombre de donneurs ayant participé à la transfusion.

La fréquence réelle de l'hépatite d'inoculation est très difficile à apprécier, étant donné qu'un dépistage systématique est exceptionnellement effectué et que les différentes statistiques tiennent plus ou moins compte des formes anictériques, tant chez les donneurs que chez les receveurs.

Cette étude s'est limitée volontairement aux seules formes ictériques, en raison de l'impossibilité de tests biologiques effectués de façon systématique et à plusieurs reprises dans les 6 mois suivant la transfusion. La fréquence de l'ictère post-transfusionnel a été établie par une enquête effectuée parmi les malades opérés au centre de chirurgie cardio-vasculaire de l'Hôpital Broussais (Professeur Dubost), au cours de l'année 1969.

On a éliminé de cette statistique, d'une part les ictères survenus moins de 15 jours après l'intervention et, d'autre part, les ictères plus tardifs, mais dont l'étiologie non virale paraît assurée (ictère hémolytique, ictère obstructif,).

Des travaux très récents de nombreuses équipes ont permis de conclure à l'identité entre le virus de l'hépatite et l'antigène Australia. La deuxième partie de ce travail concerne donc la détection de l'antigène Australia chez les donneurs participant aux interventions de chirurgie cardio-vasculaire.

La comparaison des fréquences relatives de l'hépatite post-transfusionnelle d'une part et de la virémie chez les donneurs d'autre part (basée sur la détection de l'antigène Australia), devrait accroître les connaissances sur la prévention et la détection de cette complication iatrogénique, non négligeable puisqu'elle peut engager le pronostic vital du malade.

Le dépistage des donneurs porteurs de virus a été effectué, dans cette étude, par deux techniques effectuées habituellement de façon simultanée :

- l'immuno-diffusion en gel d'agarose selon la technique d'Ouchterlony
- la fixation du complément en micro-plaques qui s'est révélée beaucoup plus sensible et dont la spécificité mérite confirmation.

L'éviction systématique des donneurs porteurs de l'antigène Australia, devrait diminuer de façon appréciable, la fréquence de l'hépatite transfusionnelle.

I - HISTORIQUE

L'hépatite virale, connue depuis fort longtemps, a suscité l'écriture d'une quantité impressionnante d'ouvrages qui ne ~~faisaient~~ avancer qu'à tous petits pas dans la connaissance de cette affection.

L'hépatite dont l'étiologie virale avait été déjà soupçonnée par Mc Donald, comprend les affections habituellement décrites comme hépatite infectieuse causée par le virus A, et l'hépatite sérique ou d'inoculation ou transfusionnelle, causée par le virus B. Celle-ci, à l'encontre de l'hépatite infectieuse, a une histoire relativement courte. La première description remonte à 1883 : Lürman y attire l'attention sur la "jaunisse" qui suit la vaccination chez les marins à l'aide de "lymphe" humaine glycérimée.

Plus tard, il a été constaté que la "jaunisse" transmise par la seringue était particulièrement fréquente dans les services où des injections multiples étaient pratiquées sans une stérilisation efficace des aiguilles et des seringues.

C'est finalement la survenue de deux "épidémies" qui a attiré particulièrement l'attention sur l'hépatite sérique.

La première a été observée pendant la dernière guerre en 1942 : 28.585 cas de jaunisse, dont 62 décès ont été enregistrés parmi le personnel de l'armée américaine vaccinée contre la fièvre jaune, vaccin contenant du sérum humain.

La seconde réunissait 41 cas, dont 8 mortels, chez des enfants, après l'injection de sérum convalescent de rougeole.

C'est à cette époque que fut aussi reconnue la transmission de l'hépatite par la transfusion de sang.

Il est classique d'opposer l'hépatite infectieuse à virus A, d'incubation courte, à contamination par voie orale, à l'hépatite sérique, à virus B, d'incubation plus longue, à contamination par voie parentérale.

Il semble que, à l'heure actuelle, le schéma opposant ces deux hépatites ne soit plus entièrement vrai, car le virus B pourrait pénétrer dans l'organisme par la voie orale, et inversement le virus A à une époque de la maladie, pourrait être transmis par le sang d'un donneur.

Ces notions récentes, rendent le plus souvent difficile, voire même impossible, la classification rigoureuse des cas en hépatites à virus A ou B.

La transmission de sang total expose à un risque d'hépatite, variable selon les auteurs et le nombre d'unités de reçues, s'étalant de 0,5 % à 4 % avec du sang total, il augmente dans les centres de chirurgie cardio-vasculaire, ainsi que dans les unités d'hémodialyse où il fluctue entre 5 % et 8 % (Sharp et Eggleston).

En France Chevallier et Durand ont publié en 1967 la statistique suivante :

APPENDIX

..

..

..

..

..

..

..

..

..

..

..

..

..

132 enfants ont été suivis cliniquement pendant 6 mois après une intervention de chirurgie cardio-vasculaire ; 8 jaunisses ont été observées.

Ce risque est donc loin d'être négligeable. C'est dire l'importance de dépister les porteurs de virus.

C'est alors qu'un test semble pouvoir les détecter : la présence de l'antigène Australia dans le sérum, et cette acquisition revêt une importance particulière.

Blumberg et ses collaborateurs ont découvert cet antigène dans le sérum d'un aborigène australien au cours de recherches concernant les groupes sériques (lipoprotéines).

En utilisant des sérums d'hémophiles polytransfusés et les mettant au contact de sérum de sujets normaux de différentes races, ils constatèrent que le sérum de l'aborigène australien mis à diffuser en agarose en face d'un sérum d'hémophile selon la technique d'immuno-diffusion d'Ouchterlony donnait naissance à un arc de précipitation.

Cet antigène ainsi révélé, fut nommé "Antigène Australia".

Il a alors été remarqué que 28 % des hémophiles polytransfusés possèdent dans leur sérum l'anticorps précipitant avec l'antigène Australia, et que celui-ci se retrouve avec des fréquences variables suivant les populations chez des sujets normaux. Ainsi, très rarement retrouvé chez les américains du Nord (1 %), il est beaucoup plus fréquent dans les pays tropicaux, notamment aux Philippines et au Japon où il peut atteindre 20 %.

Poursuivant leurs recherches, Blumberg et ses collaborateurs retrouvent cet antigène Australia dans certaines maladies : leucémies, mongolisme (plus de 30 %), lèpre, thalassémie, Un pas décisif est franchi lorsqu'il est établi que l'antigène est très fréquemment retrouvé dans les hépatites aiguës.

Ils le mettent en évidence par immuno-diffusion chez 34 % des hépatites considérées comme post-transfusionnelles et dans 13 % d'hépatites dites infectieuses.

Au microscope électronique, l'antigène Australia apparaît comme une particule de 200 Å qui a un aspect viral. La question se pose alors de savoir de quel virus il pourrait s'agir Et après les premiers travaux de Blumberg, les recherches s'orientent vers le ou les virus de l'hépatite :

- en immuno-fluorescence, l'anticorps, obtenu en immunisant des lapins avec l'antigène, se fixe sur les coupes de foie de malades atteints d'hépatite virale, au niveau des noyaux des hépatocytes.
- Prince en 1968 constate que le sang de donneurs trouvés porteurs de l'antigène, est capable de transmettre une hépatite à certains des receveurs. En outre, il met en évidence l'anticorps chez certains hémophiles polytransfusés et la présence de l'antigène seulement dans les hépatites d'inoculation.

Parallèlement Krugman et Giles, à Willowbrook, centre réputé pour sa situation épidémiologique en matière d'hépatite, isolent au cours d'une expérience remarquable faite sur des enfants, les virus MS 1 et MS 2 de l'hépatite virale.

Ils s'adressent à des enfants, car il est bien établi que l'hépatite infectieuse est, par

rapport aux adultes, relativement bénigne chez eux, où la plupart des cas revêtent une forme anictérique ou cliniquement asymptomatique.

Ils identifient ainsi le virus MS 1 comme étant celui de l'hépatite infectieuse (IH) et le virus MS 2 comme celui de l'hépatite sérique (SH), ou post-transfusionnelle.

Par la suite, ils ont montré que l'antigène Australia se trouve dans dix sérums sur douze hépatites d'inoculation (type MS 2) et en aucun cas dans les sérums d'hépatite épidémique (type MS 1).

Prince précise en outre que la présence d'antigène précède nettement les signes cliniques et même biologiques (élévation des transaminases) de l'hépatite.

Gocke et Kavey de même montrent que la positivité n'est retrouvée que si la recherche est pratiquée tôt dans l'histoire de l'hépatite : la réaction s'éteint en moyenne au 18ème ou au 19ème jour. Ils trouvent l'antigène dans plus de 80 % d'hépatites virales.

D'autre part, ils le trouvent aussi 8 fois sur 1726 donneurs de sang sains. Sur 12 malades recevant du sang, de ces donneurs, contenant l'antigène, 9 font une hépatite après la transfusion.

La relation entre l'Antigène Australia et l'hépatite virale est fermement établie, d'autant plus que des études d'immuno-fluorescence le mettent en évidence sur les noyaux des cellules de foie de malades atteints d'hépatite virale, mais montrent qu'il est absent des hépatocytes dans toutes les maladies du foie autres que l'hépatite, ainsi que dans la mononucléose infectieuse.

Prince montre que les antigènes SH et Australia, donnent des réactions d'identité et contribue à établir la parenté étroite entre l'antigène et l'hépatite à virus.

Les auteurs sont cependant divisés sur la spécificité de l'Antigène Australia. Certains (London - Sutnick - Blumberg d'une part, Gocke et Kavey d'autre part) considèrent que l'Antigène Australia se rencontre dans les deux variétés d'hépatite, plus fréquemment toutefois avec le virus B. D'autres (Prince, Giles et Krugman, J.P. Soulier), ne trouvant pas l'antigène Australia dans les cas de type indiscutablement épidémique, considèrent qu'il n'est pas lié à l'hépatite au virus A.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100

Pourcentage en fonction de:

Age et Sexe.

—

118 enfants < 15 ans		
2	ictères	1,7 %

236 femmes		
9	ictères	3.8%

314 hommes		
24	ictères	7,6 %

Type d'intervention

164 sans CEC 6 Ictères	(3 flacons) 3,6 %
---------------------------	------------------------

48 CEC Rygg 11 Ictères	(6,3 flacons) 4,5 %
---------------------------	--------------------------

138 CEC 16 Ictères	Kay-Cross (9,5 flacons) 17,6 %
-----------------------	-------------------------------------

Type de transfusion

213 malades	< 5 unités
6 Ictères	2,8 %

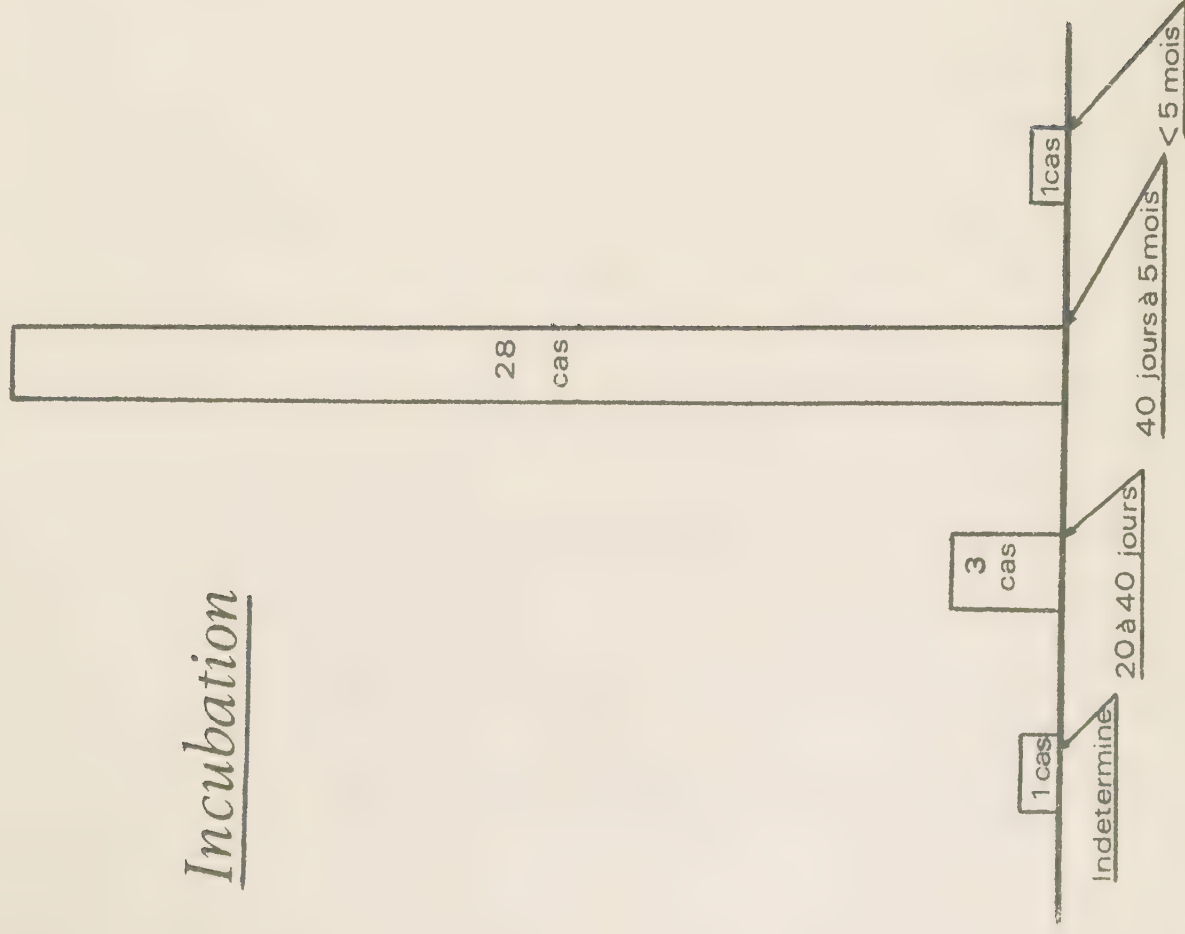
223 malades :	5 à 9 unités
11 Ictères	4,9 %

114 malades :	> 10 unités (fract.comprise)
16 Ictères	14 %

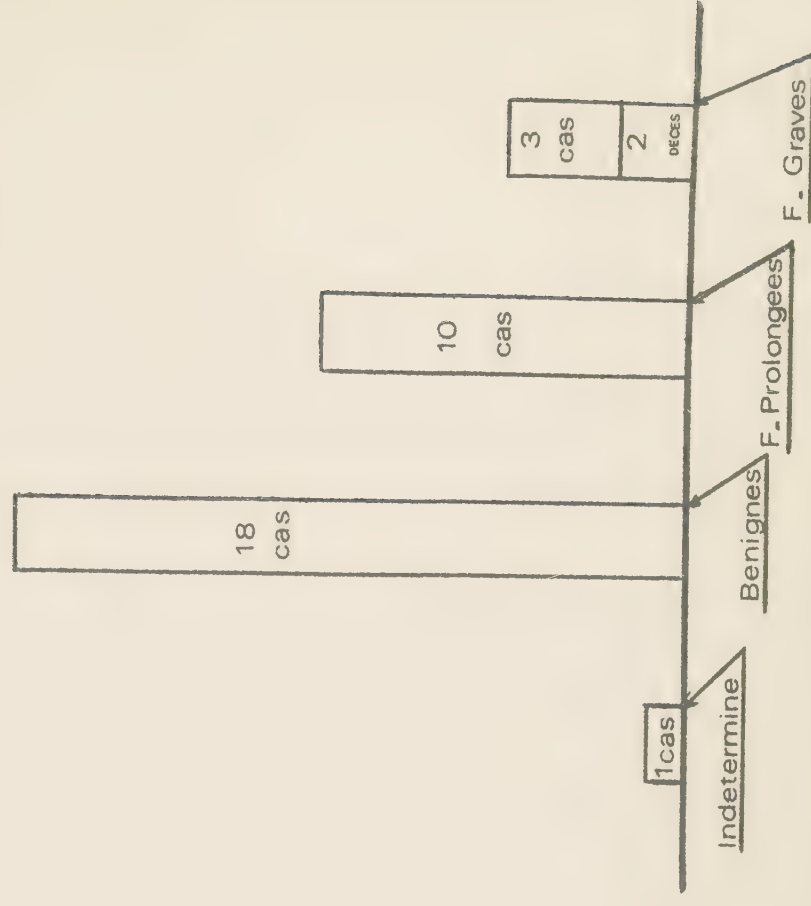
Hepatitis Transfusionnelles en chirurgie cardiaque

- 33 cas sur 550 malades -

Incubation



Evolution



II - MATERIEL D'ETUDE

1°) - MALADES ATTEINTS DE CARDIOPATHIES OU DE SYNDROMES VASCULAIRES OPERES AU COURS DE L'ANNEE 1969

Il s'agit d'une enquête faite auprès de ces malades, afin d'établir la fréquence de l'hépatite transfusionnelle au moins des formes ictériques en chirurgie cardio-vasculaire,

Cette chirurgie nécessite de grandes quantités de sang, surtout pour alimenter les circuits extra-corporels.

Pour établir cette enquête une lettre a été adressée à tous les malades ayant survécu de plus de 3 mois à l'intervention et habitant la France ; ce laps de temps de 3 mois correspond en moyenne à la durée d'incubation de l'hépatite transfusionnelle ; la sélection en fonction de la résidence en France a été décidée dans la mesure où elle favorisait un maximum de réponses et facilitait les suites de l'enquête.

Cette lettre se présentait sous la forme d'un questionnaire où il était demandé de répondre par oui ou par non aux trois questions suivantes :

- coloration anormalement foncée des urines
- décoloration des selles
- coloration jaune de la peau et des conjonctives

Si la réponse était positive à l'une au moins des questions il était en outre demandé :

- la date de début du ou des symptômes
- leur durée
- leur gravité éventuelle
- le nom et l'adresse du médecin consulté
- les résultats d'examens biologiques éventuellement pratiqués

Les malades questionnés se répartissent en deux catégories suivant que leur intervention était pratiquée sous circulation extra-corporelle (CEC) ou non :

a) - Malades opérés sous CEC

Ils représentent une grande majorité. Il est utile de préciser les types d'appareils utilisés et les modes de remplissage correspondants :

1) - Types d'appareils

Deux types d'appareils ont été couramment utilisés pour les circulations extra-corporelles dans le service du P^r Dubost durant l'année 1969 : le type KAY CROSS et le type RYGG.

- L'oxygénateur de type KAY CROSS à disque est de grande capacité (6 à 8 flacons de sang) et est utilisé pour les interventions longues.

- L'oxygénateur de type RYGG à bullage (et exceptionnellement les types Bentley et Travenol) est un oxygénateur en sac plastique, de bien moindre capacité que le type KAY CROSS (de l'ordre de 2 à 3 flacons).

c) - Remplissage

Le remplissage se fait avec du sang dilué ; soit du sang hépariné prélevé en flacons siliconés contenant 20 mg d'héparinate de calcium chacun dans 30 ml de sérum glucosé isotonique ; soit du sang ACD qui a été prélevé le matin même de l'intervention en flacons siliconés contenant 75 ml de solution ACD (pH 5, 50) pour 400 ml de sang.

Deux types de diluants ont été utilisés pour le remplissage des oxygénateurs :

- soit Rhéomacrodex à la dose de 15 à 20 ml/kg de poids corporel
- soit Ringer lactate dans une proportion supérieure : 20 à 30 ml/kg de poids corporel.

3) - Nombre de malades

Nous avons choisi 740 malades ayant subi une intervention dans le service du Professeur Dubost en 1969. 518 malades ont été opérés sous circulation extra-corporelle.

215 étaient porteurs de cardiopathies congénitales

303 étaient porteurs de cardiopathies acquises.

Parmi les cardiopathies congénitales, il faut noter la grande majorité de communications inter-auriculaires et inter-ventriculaires, ainsi que la fréquence des sténoses pulmonaires.

Parmi les cardiopathies acquises opérées sous CEC il importe de signaler l'immense majorité de mise en place de prothèse (valve de starr généralement) sur les valves aortiques ou mitrales (voir tableau).

b) - Malades opérés sans circulation extra-corporelle

222 malades ont été opérés sans le secours d'une CEC. La quantité de sang reçue par ces malades était proportionnelle aux pertes.

On note le petit nombre de cardiopathies congénitales dans ce groupe, ces malformations intéressant le plus souvent la structure interne du coeur et justifiant donc d'une circulation extra-corporelle, afin de permettre aux chirurgiens de travailler à coeur ouvert.

Quant aux cardiopathies acquises dans ce groupe de malades, la mise en place de pace-makers et les interventions sur l'aorte (anévrismes de l'Aorte en ses différents niveaux) et les artères des membres sont de loin les plus fréquentes (voir tableau).

2°) - LES DONNEURS DE SANG

Les donneurs de sang constituent notre deuxième matériel d'étude.

Pendant qu'était menée l'enquête précédente, il a été recherché l'antigène Australia chez un certain nombre de donneurs de sang.

Le Centre de Transfusion de Broussais, qui alimente les services de cet hôpital et notamment le service de chirurgie cardio-vasculaire du Professeur Dubost, recrute un grand nombre de donneurs de sang. Ceux-ci sont fichés et convoqués de façon régulière. Un échantillon de leur sang, le jour de leur convocation, est destiné spécialement à la recherche de l'antigène Australia.

Il a été testé à ce jour :

Deux méthodes sont employées pour le dépistage de cet antigène : la technique de l'immuno-diffusion et la technique de la fixation du complément.

a) - L'immuno-diffusion en agarose selon la technique d'Ouchterlony (Prince) :

Le sérum à tester est placé dans une alvéole de la plaque d'agarose et dans une autre alvéole voisine de quelques millimètres se trouve un sérum contenant l'anticorps anti-Australia. L'apparition d'un arc de précipitation à la limite de diffusion des deux sérums témoigne une réaction antigène-anticorps, apparition qui peut se faire dans un délai de 18 heures à 6 jours suivant l'intensité de la réaction.

Les détails de cette technique sont les suivants :

1) - Préparation de la solution-mère d'Agarose et de la solution Tampon

A - Les pesages des divers composés sont à considérer de façon pratique en premier lieu

(1) - Pour la solution Tampon :

	P.M.	Quantité à peser
NaCl 0,143 M	58,44	8 g 3569
Tris 0,014 M	121,14	1 g 6959
EDTA 0,0014 M	373,00	0 g 5208

(2) - Pesage de l'Agarose :

(Agarose spéciale pour Immuno-diffusion "Industrie Biologique Française")

15 g d'Agarose (pour 500 ml d'eau distillée)

(3) - Pesage du Mercurothiolate de Na pour une solution à 0,2 %

soit : 100 mg pour 500 ml d'Agarose

B - Préparation de la solution-mère d'Agarose
à 3 % et conservation

- Dissoudre 15 g d'Agarose (déjà pesée) pour 500 ml d'eau distillée
- Mettre au Bain-Marie à 56° C avec agitation constante
➤ 12 heures (ou agitateur magnétique. Chauffage)
- Ajouter en dernier lieu du Mercurothiolate de Na à 0,2 %, après dissolution de l'Agarose : on a vu qu'il faut 100 mg de Mercurothiolate de Na pour 500 ml d'Agarose.

La Conservation de l'Agarose se fait dans des tubes en "Pyrex" préalablement stérilisés (au Poupinel ➤ 2 h.) :

- Couler 10 à 20 ml d'agarose encore chaude dans les tubes Pyrex
- Boucher
- Les mettre à 4° C (Réfrigérateur - Chambre froide)

C - Préparation de la solution Tampon

Na Cl	: 8 g 3569	} pour 1 litre d'eau distillée
Tris	: 1 g 6959	
EDTA	: 0 g 5208	
(Sodique)		

Vérifier et ajuster au besoin le pH de la solution ainsi obtenue

pH = 7,6

La solution tampon est à conserver aussi à 4° C.

2) - Préparation de lames d'immuno-diffusion et leur emploi

A - Matériel

- 1° Agarose spéciale pour Immuno-diffusion, tampon + Pipettes graduées ou jaugées
- 2° Lames : idéalement on emploie des lames rodées.

Ces lames auront été préalablement lavées à l'alcool (mieux, immersion dans l'alcool 12 h à 24 h avant emploi), puis numérotées avec un "diamant".

3° On dispose ces lames numérotées sur des portoirs en plastique (6 lames par portoir) avant de couler la gélose (voir plus loin)

4° Plan avec niveau et travées (N° 6821 B)

5° Ces portoirs en plastique avec lames et géloses sont alors placés sur des portoirs métalliques pouvant contenir 3 portoirs en plastique chacun.

6° Chaque portoir métallique est mis dans une chambre humide d'Immuno-diffusion.

Ces lames avec gélose sont ainsi conservées pendant une nuit dans un endroit frais (chambre froide) avant emploi.

7° On pratique des trous dans la gélose à l'aide d'un emporte-pièce.

B - Technique de préparation des lames

1° Lames lavées à l'alcool, séchées, numérotées. Lames bien serrées. Vérifier le niveau plan.

2° Redissoudre l'Agarose-mère en tube dans de l'eau bouillante d'un Bain-Marie et diluer dans la solution Tampon :

1, 3 partie d'Agarose	pour	3 parties de Tampon
<u>Mélange</u> : 4, 3 ml d'Agarose pour 10 ml de Tampon		

3° Chauffer le mélange et la pipette graduée ou jaugée 10 ml, embout large, avec va et vient d'Agarose. Le mélange est à 45° C. environ.

4° Couler sur les lames : 10 ml de mélange pour une travée de 3 lames sur portoir en plastique.

5° On a vu qu'il fallait conserver les lames avec gélose pendant une nuit dans les chambres d'Immuno-diffusion à 4°C. Leur utilisation après 3 à 4 heures de chambre froide est considérée comme acceptable.

C - Emploi et lecture des lames

1° Pratiquer des trous dans la gélose à l'aide de l'emporte-pièce, juste avant de déposer les sérums.

2° Remplir les grandes cuvettes avec les sérums à tester et les petites avec l'Ag ou l'Ac connu (mieux 2 Ag ou 2 Ac de référence)

3° Laisser les lames testées dans les chambres humides à température ambiante pendant 5 jours.

4° Lecture : "Lire" 2 fois par jour dès le lendemain (il arrive que les arcs de précipitation disparaissent).

La "lecture" des lames se fait à l'aide d'un éclairage assez vif et sur fond noir.

3) - Conservation des lames par coloration

A - Bains

Après immuno-diffusion (3 à 4 jours) :

- Faire un premier bain des lames dans du sérum pendant 15h à 17h (en gros 24h)
- Deuxième bain de sérum ☞ pendant 6 heures
- Troisième bain d'eau distillée pendant 1 heure

Ceci afin d'éliminer l'excès des protéines sériques sur l'agarose qui prendraient trop la coloration et donneraient un aspect trop foncé à la lame.

B - Séchage des lames

- Recouvrir les lames d'une bande de buvard fin ou de papier filtre en appuyant légèrement le papier sur la gélose avec la pulpe du doigt.
- Laisser sécher à la température ambiante pendant 12 h ou à l'étuve à 37° pendant 5 à 6 heures. Le papier doit se détacher très facilement de la gélose séchée.
- Si les lames ne sont pas séchées séparément et si elles sont restées sur les portoirs en plastique, les séparer en passant un bistouri entre les lames.

C - Coloration et Décoloration

- Coloration : Amido Schwartz pendant 5 minutes (6g dans 1 litre décolorant)

- Décoloration :

Décolorant

{	Alcool méthylique	: 45 %
	Acide acétique	: 10 %
	Eau distillée	: 45 %

Baigner les lames colorées à l'Amido Schwartz 2 ou 3 fois pendant 10 minutes chaque fois dans le liquide décolorant.

- b) - La réaction de fixation du complément (Shulman) qui repose sur la consommation du complément lors de la formation du complexe antigène, anticorps.

Cette réaction se fait soit en microtechnique, soit en macrotechnique.

A - Micro-technique :

1) Réactifs

- Solution tampon de Levine-Mayer diluée au 1/5 en eau distillée.
- Globules rouges de mouton prélevés stérilement sur solution ACD, datant de moins de 8 jours.
- Sérum hémolytique de lapin anti-globules rouges de mouton (institut Pasteur).
- Complément humain préparé à partir de sérums de donneurs de groupe AB.

2) Matériel nécessaire

- Pour le titrage du C' et les réactions on utilise des microplaques en plastique "microtest tissue culture plate N° 3034 de chez Falcon", recouverte de 6 ml d'huile de paraffine (MERCK ou FISCHER SCIENTIFIC C° saybolt viscous 335/350).
- La distribution des réactifs est faite avec une seringue HAMILTON (microliter n° 705).
- Pour agiter les microplaques il faut un : VORTEX-MIXER (scientific industries).

3) Préparation de la solution de Levine-Mayer

Elle doit être renouvelée tous les mois.

- Dissoudre 85g de Na Cl et 3,75g de 5,5 - diéthyl-malonylurée sodée, dans environ 1,400 g. d'eau bidistillée chaude.
- Mélanger les deux solutions et laisser refroidir à température du laboratoire.
- Ajouter 5 ml d'une solution de $MgCl_2$ 1 M et de $CaCl_2$ 0,3 M.
- Ajouter enfin une quantité d'eau bidistillée suffisante pour amener au volume de 2000 ml.
- Conserver à 4°C. cette solution mère concentrée. Pour l'usage quotidien préparer la quantité nécessaire de solution isotonique en diluant un volume de solution-mère dans quatre volumes d'eau bidistillée.

4) Préparation du complément

Le sérum humain est un mélange de sérums de donneurs de groupe AB (au moins 4 donneurs différents), sans antécédents d'iso-immunisation (transfusions ou grossesses).

Les donneurs doivent être à jeun.

Le sérum est séparé du sang total par centrifugation 3 heures après le prélèvements :

- le sang est d'abord conservé 1 heure à température du laboratoire,
- puis 2 heures à 4° C.

Deux centrifugations successives de 20 minutes à 2500 X G et à 4° C. sont faites, la première afin de séparer le sérum du caillot, la seconde pour éliminer des éléments figurés qui pourraient rester en suspension.

Le mélange est conservé sous un volume de 2 ml, en tubes bouchés à - 85° C. Il est utilisé immédiatement après décongélation rapide. Chaque échantillon n'est décongelé qu'une seule fois.

5) Sensibilisation des globules rouges de mouton

Prélever stérilement 10 ml de culot de globules rouges de mouton, ajouter à ces 10 ml, 40 ml de sérum physiologique stérile. Centrifuger 10mn à 1700 t/mn à +4° C. Décanter, ajouter 40 à 50 ml de tampon Lévine-Mayer au 1/5. Centrifuger 10 mn à 1700 t/mn à + 4° C. et décanter.

Prendre 0,8 ml du culot globulaire auquel on ajoute 40 ml de tampon. Ceci constitue une suspension à 2 % en GR. qu'il faut ajuster à :

- 400.000 GR/mm3 $\pm$ 10.000
- 0,300 de densité optique

Sensibilisation proprement dite :

Sérum hémolytique : 12 ml de Lévine-Mayer au 1/5
+ 1 goutte de SH pur

On mélange 12 ml de SH + 12 ml de la suspension de GR à 2 %

On laisse incuber 30 mn au bain-marie à 37°C.

Conservé les GRS dans la glace fondante jusqu'à leur utilisation.

6) Titrage du complément

Tous les réactifs nécessaires à la réaction doivent être conservés dans la glace fondante.

On prépare une série de dilutions à partir du complément pur (par exemple du 1/10 au 1/90) dans ~~du~~ tampon.

Dans chaque godet d'une microplaque on distribue 4 μ l de tampon, puis 2 μ l de chaque dilution de C'.

On laisse incuber 1 heure à 37° C. après avoir agité avec un vortex.
On ajoute alors 2 μ l de GRS, on agite et on porte à l'étuve à 37°C pendant 30 mn, en agitant toutes les 10 minutes toujours au Vortex.

Enfin on centrifuge la plaque à 700 X G pendant 3 minutes.

La lecture se fait à l'oeil nu.

L'unité hémolytique 100 % ou H₁₀₀ est donnée par la plus grande dilution de C' produisant une hémolyse complète.

Pour la réaction proprement dite on utilise environ 2 unités de C' :

- Par exemple si l'unité H₁₀₀ = 1/25, on utilisera un C' au 1/12.

En pratique, il faut ajuster le titre de C' à utiliser dans les réactions: on prépare plusieurs dilutions voisines et entourant le 1/12 (dans l'exemple choisi) et on teste chaque dilution avec des antigènes et anticorps connus eux-mêmes dilués (voir réaction proprement dite) et on cherche quelle dilution de C' donne le titre le plus élevé pour ce sérum connu, en même temps qu'une hémolyse complète pour les témoins sérums.

7) Réaction proprement dite

Il faut décomplémenter les sérums à tester 30 minutes à 56°C.

I - Recherche de l'antigène :

On prépare plusieurs dilutions du sérum à tester :

- pur - 1/8 - 1/16 - 1/64 - 1/256 - par exemple.

et on teste chaque dilution contre au moins deux anticorps connus différents.

On distribue les réactifs comme suit :

	ANTICORPS pur				TAMPON Levine - Mayer			
	2 μ l	2 μ l	2 μ l	2 μ l	2 μ l	2 μ l	2 μ l	2 μ l
Dilutions du sérum à tester	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{64}$	$\frac{1}{256}$	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{64}$	$\frac{1}{256}$
	2 μ l	2 μ l	2 μ l	2 μ l	2 μ l	2 μ l	2 μ l	2 μ l
	2 μ l	2 μ l	2 μ l	2 μ l	2 μ l	2 μ l	2 μ l	2 μ l
	COMPLEMENT AU				TITRE CHOISI			

Ensuite on procède comme pour le titrage du complément.

II- Recherche de l'anticorps

Même technique, mais on teste le sérum contre des antigènes connus (au moins 2 différents) et on utilise le sérum à tester pur et les antigènes dilués (1/16 et 1/64 par exemple).

8) Résultats

La réaction est positive lorsqu'après centrifugation, on obtient un anneau d'hématies dans les godets, alors que les témoins sérums sont parfaitement hémolysés (fond rose homogène).

On peut noter l'intensité de la réaction par : +, ++, +++.

On pratiquera simultanément la réaction sur des témoins positifs et négatifs connus.

B - Macro-technique :

La précédente méthode est identique à celle-ci. On emploie les mêmes réactifs et on pratique la même sensibilisation.

Seul le titrage du complément diffère :

1) Schéma du titrage :

N° des tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9
C' au 1/60	0,2	0,4	0,6	0,8	1	1,2	1,4	1,6	1,8
Tampon au 1/5	2,2	2,0	1,8	1,6	1,4	1,2	1,0	0,8	0,6
G.R. à 2 % sensibilisés	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
	1/720	2/720	3/720	4/720	5/720	6/720	7/720	8/720	9/720

2) Laisser incuber 30 minutes au Bain-marie à 37°C.

3) Centrifuger les tubes 10 minutes à 4000 t/mn à +4°C et lire le degré d'hémolyse du surnageant photolorimétrique filtre vert 540 contre un blanc : tampon Lévine-Mayer (au 1/5).

4) On détermine l'unité Hémolyse 50 % (Iu. H 50).

Pour ce faire, on établit la courbe d'hémolyse

III - RESULTATS

1°) - FREQUENCE DE L'HEPATITE POST-TRANSFUSIONNELLE

- . Il a été envoyé 740 questionnaires
- . 22 nous ont été retournés, domicile inexact
- . Nous avons reçu 582 réponses (soit 78 %), 32 sont inexploitable
- . Restent 550 réponses pouvant être considérées, et se décomposant comme suit :

- réponses négatives : 505
- réponses "douteuses" : 12
- réponses positives : 33 soit 6 %

a) - Réponses négatives

Il est certain que parmi ces réponses négatives un certain nombre d'hépatites anictériques se trouve inclus. L'absence de tests biologiques pratiqués chez les malades n'a pu les mettre en évidence.

b) - Réponses douteuses

Ont été considérées comme douteuses des réponses indiquant :

- soit la survenue d'un ictère très précoce (quelques jours après l'intervention)
- soit des symptômes divers évocateurs mais risquant d'être provoqués par d'autres affections
- soit enfin la survenue d'une hépatite chez un transfusé au milieu d'autres cas d'hépatites épidémiques.

1) - Survenue d'un ictère très précocement après l'intervention : 4 cas

- Dans trois de ces cas ce fut un ictère léger de très courte durée et d'apparition précoce, dans la semaine suivant l'intervention, en moyenne du 2ème au 4ème jour ; la coloration des urines et des selles n'était généralement pas perturbée. Deux de ces trois malades n'ont pas eu de CEC et ont reçu des quantités très minimales de sang.

Le troisième malade a subi une intervention sous CEC, de type KAY CROSS, au cours de laquelle il lui a été placées 2 valves (mitrale et aortique) ; ce malade a reçu 16 flacons et de plus a eu un maelena.

Si pour les deux premiers malades il est difficile d'établir l'origine de cet ictère, il est vraisemblable que pour le troisième, l'origine en soit la résorption sanguine secondaire au maelena, encore que soit observé fréquemment un certain degré d'hémolyse au niveau de ce matériel étranger que sont les prothèses valvulaires (ictère hémolytique traumatique).

- Le quatrième cas de cette série est une authentique hépatite virale, affirmée par les tests biologiques, survenue deux jours après l'intervention. Ce malade opéré d'un rétrécissement mitral, à coeur fermé (sans CEC) a reçu 5 flacons de sang. Ce malade n'a pas reçu de transfusion dans l'année précédant son intervention. L'ictère fut intense, prolongé, et les tests hépatiques mirent 8 mois pour revenir à des valeurs normales. L'étiologie virale de cette hépatite ne fait pas de doute, mais on ne peut parler de virus B avec une incubation qui n'aurait été que de 48 heures. Il semble donc que ce malade était en incubation d'une hépatite épidémique au moment de son intervention ; celle-ci a pu favoriser ou majorer l'apparition de l'ictère.

2) - Symptômes évocateurs d'une hépatite transfusionnelle mais pouvant relever d'autres causes : 6 cas

Les symptômes sont faits de coloration anormalement foncée des urines, d'asthénie, de troubles digestifs.

De tels symptômes, même s'ils sont groupés, sans ictère et sans tests biologiques, ne peuvent faire entrer ces malades dans notre statistique.

Il faut cependant noter que chez 4 de ces 6 malades, il s'agissait d'un symptôme isolé : coloration anormale des urines. L'hypothèse d'une hématurie ne peut être rejetée, puisque ces 4 malades étaient soumis au traitement anticoagulant.

3) - Ictères épidémiques possibles

Hépatite virale survenue chez des sujets transfusés, dont l'origine infectieuse de ces cas ne peut être rejetée avec certitude du fait que dans l'entourage de ces malades, plusieurs cas d'hépatites épidémiques furent signalés à la même époque : deux cas.

Le premier cas concerne un enfant de 7 ans qui présente 7 mois après une intervention sans CEC, une hépatite d'une durée de 15 jours.

Le deuxième cas est un homme de 46 ans, chez lequel apparaît un subictère 4 mois après son intervention.

c) - Réponses positives

Hépatites transfusionnelles probables parce que survenues après injection de sang ou de ses dérivés dans les délais où la responsabilité de celle-ci peut être envisagée : 33 cas sur 550 réponses soit une fréquence de 6 %.

L'étude détaillée de ces 33 malades met en évidence un certain nombre de données.

1) - Répartition selon l'âge

29 malades sur 432 adultes ayant répondu au questionnaire ont eu un ictère transfusionnel, soit 6,7 %.

Parmi les enfants (moins de 15 ans), 2 ont présenté un ictère franc - fréquence: 1,7 %.

Mais, 2 autres ont fait une forme anictérique découverte au centre de convalescence par dosages systématiques et périodiques des transaminases, pratique qui n'a pas eu cours pour les adultes.

Cette étude de la fréquence des hépatites transfusionnelles selon l'âge, montre le petit nombre d'enfants atteints et confirme le fait que les enfants font généralement des formes bénignes ou anictériques.

2) - Répartition selon le sexe (y compris les enfants)

24 hommes sur 314 réponses de malades masculins ont présenté une hépatite transfusionnelle soit une fréquence de 7,6 %.

9 femmes sur 236 ont été ictériques soit 3,8 %.

Il ressort une nette prédominance d'ictères chez les hommes où la fréquence se trouve être le double de celle des femmes dans notre statistique.

3) - Répartition suivant les types d'intervention, qui se sont déroulés soit sous CEC (386 cas), soit sans CEC (164 cas)

La première série se subdivise selon le type d'oxygénéateur utilisé, soit oxygénéateur KAY CROSS (138 malades), soit oxygénéateur du type RYGG (248 malades).

Cette subdivision correspond au nombre très différent de flacons de sang utilisés selon l'une ou l'autre des procédures : l'oxygénéateur KAY CROSS utilisant 9,5 flacons en moyenne, et l'oxygénéateur RYGG nécessitant 6,3 flacons :

- 16 malades parmi ceux opérés avec un oxygénéateur KAY CROSS ont eu un ictère transfusionnel, soit 11,6 %
- 11 parmi ceux opérés avec un RYGG, soit 4,5 %
- enfin, 6 ictères sont enregistrés parmi 164 malades opérés sans CEC, soit 3,6 %. Chaque malade dans cette catégorie ayant reçu en moyenne 3 flacons (avec pour valeurs extrêmes 1 à 12 flacons). - (voir tableau)

4) - Répartition suivant le type de transfusion (voir tableau)

Un donneur peut être contaminateur par son sang ou les dérivés sanguins.

Toutes les fractions du sang peuvent être ictérogènes, sauf le sérum albumine et probablement les gamma-globulines.

Les fractions telles que fibrinogène, PPSB, plasma lyophilisé ou fraction anti-hémophile sont constituées à partir de pools de donneurs (une dizaine ou plus), et l'injection de tels dérivés augmenterait la probabilité d'une contamination du lot entier par un ou plusieurs donneurs.

Un cinquième des malades a reçu plus de dix unités (fractions comprises) sur l'ensemble des malades opérés.

Le plus grand nombre d'ictères est retrouvé chez les sujets ayant reçu plus de 10 unités de sang, ou de ses dérivés provenant de donneurs différents.

5) - Etude du délai d'apparition de l'ictère (voir tableau)

La période d'incubation s'étale sur une période de 3 semaines à 8 mois.

Les délais d'apparition de l'ictère, après la dernière transfusion, sont classés en 3 séries :

- la première regroupe les périodes d'incubation inférieures à 40 jours : 3 cas
- la deuxième série inclut les délais compris entre 40 jours et 5 mois : 28 cas
- la troisième série n'intéresse qu'un seul cas dont l'ictère est apparu au-delà de 5 mois : au 8ème mois.

Dans un cas, la durée de la période d'incubation ne nous a pas été précisée.

Il faut noter l'absence de relation entre la quantité de sang reçue et la durée d'incubation.

6) - Etude de l'évolution et de la durée de l'ictère (voir tableau)

a) formes bénignes :

Elles constituent la majorité et sont au nombre de 18, soit 54 %.

Les signes cliniques ne sont pas différents de l'hépatite infectieuse : asthénie, anorexie, coloration anormale des selles et des urines ; chaque fois où les tests biologiques ont été précisés, les chiffres de transaminases - tant SGPT que SGOT - se sont montrés élevés ainsi que la bilirubinémie et l'altération des tests de floculation.

Les valeurs des transaminases s'évaluaient entre 170 U (forme anictérique infantile) et 4000 U, la plupart se situant entre 500 et 1000 U.

La durée de l'ictère ne dépassait pas 3 semaines à 1 mois.

b) formes prolongées

Elles constituent un nombre relativement élevé : 10 cas soit 30 %.

L'ictère dépassait un mois d'évolution et l'hépatite s'étalait sur 2 à 3 mois généralement.

Parmi ces formes prolongées, aucune biopsie du foie n'a été pratiquée, pouvant affirmer le passage à la chronicité.

Dans 4 cas, l'évolution a dépassé 3 mois.

c) Formes graves

On parle de formes graves lorsqu'existent des signes neurologiques, des signes hémorragiques, des signes biologiques importants.

Quatre malades ont eu une telle atteinte dont deux sont décédés.

Des deux malades ayant survécu, l'un d'eux, un homme de 61 ans avait été opéré pour maladie mitro-aortique et n'avait reçu que 6 flacons de sang.

Après quatre mois d'incubation, il fait un ictère avec plus de 200 mg de bilirubinémie, des tests considérablement perturbés et des transaminases à plus de 4000 U ; heureusement deux mois plus tard, son hépatite se terminait.

L'autre malade a présenté au cours de son ictère, une phase de coma hépatique heureusement jugulée.

Deux décès ont été enregistrés dans cette série (soit 6 % des ictériques), tous deux intervenus en quelques jours, chez des hommes de plus de 50 ans. Chez l'un de ces deux malades, une biopsie du foie a montré une atrophie aigüe du type Rokitanski.

Ces 33 cas d'hépatite transfusionnelle ont reçu des traitements divers ; il a été administré chez certains en plus du traitement habituel (règles hygiéno-diététiques et hépato-protecteurs) une corticothérapie et (ou) une antibiothérapie.

Il faut noter l'absence de relation entre la quantité de sang transfusée et la gravité de l'atteinte.

7) - Recherche d'une cause prédisposant à la gravité de l'atteinte

- Une atteinte hépatique préalable à l'intervention est retrouvée dans 6 cas : insuffisance cardiaque globale avec gros foie, dont 1 cas de sclérose hépatique méta-cardiaque.
- Les malades ayant l'âge adulte et le sexe masculin représentent une forte proportion chez les ictériques.

Les 4 formes prolongées au-delà de 3 mois concernent des sujets de plus de 58 ans.

Les 2 décès d'hépatite transfusionnelle sont survenus chez deux hommes ayant respectivement 55 et 62 ans.

NOMS	Nombre de flacons et fractions	Age	Sexe	Groupe sanguin	CEC KC=Kay Cross R =Rygg	Ictère	Incubation	Durée	Diagnostic Intervention
1 MAR...	6 flacons	58 ans	M	AB +	+ KC	+	10 semaines	6 mois	Trivalves
2 PIP.....	2	54	M	A +	+ R	+	1 mois	1 mois	Péricardite constrictive
3 VIE....	4	54	M	O +	-	+	7 semaines	2 mois	Leriche (pontage)
4 SCH....	12 +2 plasma + PPSB	14	M	O +	+ KC	+	4 mois	3 sem.	Tétralogie de Fallot
5 IEU....	11	55	M	O -	+ R	+	?	6 sem.	anévrisme aorte thoracique
6 KUN...	15 + fibrinogène	53	M	O +	+ KC	+	8 mois	1 mois	I.A. (starr)
7 LOI...	21 + plasma	16	M	O +	+ R	+	18 semaines	2 sem.	Tétralogie de Fallot
8 HUB...	5	45	M	O +	+ KC	+	5 mois	1 mois	IM + IA
9 G/U...	2	58	M	A +	-	+	15 semaines	2 sem.	Désoblitération aortique
10 C/N...	1	70	F	O +	-	+	10 semaines	prolongée (chronique)	Pace Maker
11 C/AB...	6 + PPSB	40	F	A +	+ R	+	3 mois	3 sem.	R.M. redux
12 GIL....	14 +fibrinogène	17	M	B +	+ KC	SGPT > 200 U	3 semaines	2 mois	Tétralogie de Fallot
13 J/B... +	14 +2 plasma anti-héroph.	62	M	O +	+ KC	+++	3 mois	ictère foudroyant	RA + I.M.
14 OMS...	10	44	F	A +	+ KC	+	2 mois	3 sem.	RM redux
15 BLA...	8	33	M	A -	+ KC	+	10 semaines	1 mois	IA (starr)

2°) - DEPISTAGE DU VIRUS CHEZ LES DONNEURS DE SANG PAR LA RECHERCHE DE L'ANTI-GENE AUSTRALIA (Tableau)

a) - Antigène Australia

2.730 échantillons de sang provenant de donneurs différents, ont été testés en immuno-diffusion. L'antigène a été décelé par un arc de précipitation contre l'anticorps spécifique orze fois, soit une fréquence de 4,06 %.

En fixation du complément, 2.140 donneurs parmi les précédents ont été testés parallèlement, dont 1.676 donneurs en macro-méthode et 464 en micro-méthode.

En macro-méthode : 9 sérums sur 1.676 ont donné une réaction positive (absence d'hémolyse des globules rouges de mouton sensibilisés par un sérum hémolytique) - Fréquence : 5,03 % donneurs seraient porteurs de virus.

En micro-méthode : 5 sérums sur 464 donneurs testés à ce jour, ont donné une réaction positive, soit une fréquence de 10,8 %.

La fréquence de l'antigène ne paraît pas supérieure chez les sujets ayant eu un ictère dans leurs antécédents :

Sur une série de 1000 donneurs testés, l'antigène, retrouvé dans 9 sérums, n'appartenait pas une fois à un sujet ayant eu des antécédents d'ictère, alors que 92 parmi ces 1000 donneurs ont eu des tels antécédents.

b) - Anticorps anti-Australia

Sur 3.350 sérums testés en immuno-diffusion, 10 possédaient un anticorps faible, soit 3,3 %. En fixation du complément, la recherche n'a été effectuée qu'en micro-méthode sur 464 échantillons de sang = 1 seul anticorps a été trouvé ; soit une fréquence (2,2 %) inférieure à celle retrouvée en immuno-diffusion.

Un anticorps décelé en immuno-diffusion n'a pas été retrouvé en fixation du complément.

DEPISTAGE DU VIRUS DE L'HEPATITE CHEZ LES DONNEURS DE SANG

	ANTIGENE AUSTRALIA			ANTICORPS ANTI-AUSTRALIA		
	Immuno diffusion	Fixation du complément Macro-méthode	Micro-méthode	Immuno diffusion	Fixation du complément Macro-méthode	Micro-méthode
Examens	2730	1676	464	3350	20	464
Positifs	11	9	5	10	-	1
Fréquence	4,06%	5,3 %	10,8 %	3,3 %	-	2,2 %



IV - DISCUSSION - On envisagera successivement la fréquence de l'hépatite dans les suites opératoires, puis la fréquence du virus chez les donneurs de sang.

1°) FREQUENCE DE L'HEPATITE DANS LES SUITES OPERATOIRES

a) - Résultats globaux

La présente enquête révèle que la forme ictérique de l'hépatite transfusionnelle surviendrait avec une fréquence de l'ordre de 6 %, après chirurgie cardio-vasculaire, faisant intervenir, ou non, une perfusion extra-corporelle.

Cette étude n'a pas permis d'apprécier la fréquence des formes anictériques, dont le nombre serait de 2 à 4 fois supérieur à celui des formes ictériques, selon certains auteurs (Zuckerman -1969-), certaines réponses, classées comme "douteuses" parce que sans ictère apparent, indiquent cependant des symptômes évocateurs d'une hépatite transfusionnelle ; mais l'absence de dosages biologiques ne permet pas de confirmer cette hypothèse.

En effet, d'une part les transaminases n'ont pu être dosées de façon systématique, d'autre part, la recherche de l'antigène Australia n'a pas été effectuée dans cette série de malades ayant participé à l'enquête, qui ont été opérés avant la mise en application des techniques récentes de dépistage du virus.

La grande majorité des ictères est survenue chez des malades opérés sous CEC. La responsabilité éventuelle du matériel de perfusion est extrêmement limitée du fait qu'il s'agit presque exclusivement d'un matériel plastique, jeté après chaque usage.

Seules les têtes de pression, servant à enregistrer la tension artérielle du malade, ont été stérilisées par immersion dans du Merfène pendant 20 minutes, après avoir été démontées. L'efficacité d'un tel mode de stérilisation n'est pas prouvée de façon absolue. Par contre, seringues, aiguilles et matériel chirurgical ont été stérilisés en chaleur sèche au Poupinel à 280° C. pendant deux heures, mode de stérilisation dont l'efficacité a été prouvée.

Après leur sortie de l'hôpital, beaucoup de malades ont été soumis à des ponctions veineuses ou des injections intra-musculaires répétées (pour contrôles de coagulation ou injections médicamenteuses). L'emploi des seringues et aiguilles à usage unique tendant à se généraliser, les risques d'inoculation du virus en sont considérablement diminués. Le type de ce matériel n'a pas toujours pu être précisé.

Enfin, la contagion dans les suites post-opératoires par un sujet atteint d'hépatite infectieuse épidémique anictérique ne peut pas être exclue formellement.

En définitive, la responsabilité du sang ou de ses dérivés dans l'apparition de l'hépatite virale ne peut être affirmée de façon absolue que dans des cas excep-

tionnels. Seul le dépistage des porteurs de virus parmi les donneurs permettrait une accusation formelle. Elle reste cependant l'étiologie la plus vraisemblable.

Peu d'enquêtes ont été pratiquées pour évaluer le risque de l'hépatite transfusionnelle en chirurgie cardio-vasculaire. La statistique de Sharp et Eggleton (1963) ne porte que sur 64 sujets ayant reçu le sang de 20 à 25 donneurs. Les auteurs ont observé 5 cas (8 %) d'hépatite dont 3 ont été mortels.

En France, une étude de J. Chevallier et M. Durand a été publiée en 1967, et portait sur des enfants opérés du coeur. Dans une première série, 132 enfants ont été suivis cliniquement pendant six mois. Les auteurs ont observé 8 jaunisses, 4 après une incubation de 65 à 100 jours, et 4 de 3 à 5 mois après l'intervention. Un de ces enfants est mort.

Dans une seconde série portant sur 130 enfants qui n'ont été suivis que pendant trois mois, mais cliniquement et biologiquement (transaminases), il a été observé 2 hépatites ictériques et 5 hépatites anictériques.

En combinant ces deux statistiques, ces auteurs estiment que la fréquence réelle, dans la région parisienne, de cette complication, est de 1,1 % à la suite de la chirurgie cardio-vasculaire.

La première statistique citée (8 %) est proche de la nôtre (6 %).

Quant à la seconde, concernant des enfants, elle diffère un peu de la nôtre, puisque nous avons recensé 2 hépatites ictériques et 2 hépatites anictériques sur 118 enfants opérés du coeur, après un recul minimum de 3 mois pour certains.

Mais il est possible que certains enfants aient pu échapper à la pratique de dosages systématiques des transaminases, c'est pourquoi notre chiffre de 3,4 % (en comptant les hépatites anictériques), est inférieur à celui de 5,3 % de Chevallier et Durand.

Dans ces deux statistiques concernant les enfants, il ressort néanmoins une fréquence de l'hépatite inférieure à celle des adultes.

Les centres d'hémodialyse ou d'épuration extra-rénale représentent un terrain d'étude de la fréquence de l'hépatite transfusionnelle voisin de celui de la chirurgie cardio-vasculaire, chaque fois que le rein artificiel doit être "amorcé" avec du sang de donneurs.

London et Difiglia (1969), indiquent 18 cas d'hépatite clinique sur 915 malades traités par épuration extra rénale, soit 5,2 %.

Ils précisent en outre que 2,8 % (25 sur 883) du personnel travaillant dans les unités d'hémodialyse ont présenté une hépatite.

Leur observation personnelle relate le fait que dans une unité 9 malades ont été atteints d'hépatite virale ainsi que 6 membres du personnel sur 15. Dans ces 6 derniers cas, le mode d'inoculation n'a pu être précisé qu'une seule fois (piqûre au doigt avec une aiguille souillée du sang d'un malade ictérique).

Les auteurs notent que les membres du personnel ont tous fait une hépatite aigüe avec ictère franc (SGPT supérieures à 1000 U.) d'une durée inférieure à 8 semaines, alors que les malades ne devinrent jamais jaunes et leurs transaminases restèrent élevées pendant plus de 8 semaines mais sans atteindre 1000 U.

Ils émettent l'hypothèse que l'épidémie enregistrée dans cette unité d'épuration extra rénale a eu pour point de départ l'urine d'un malade ictérique entreposée dans un réfrigérateur.

L'étude conduite par P.O. Johns (1966) à Liverpool aboutit à l'hypothèse que le virus semble pouvoir pénétrer par la voie muqueuse chez des sujets qui manipulent du matériel souillé par du sang.

En effet, dans le centre d'hémodialyse concerné, une seule technicienne, parmi les 18 cas d'hépatites survenus chez les membres du personnel, avait avalé accidentellement du sérum d'un des malades.

Aux termes de ces différentes enquêtes, le problème épidémiologique semble devoir être reconsidéré, puisque, outre la voie parentérale, la voie orale, et peut être même cutanée pourrait être empruntée par le virus.

Sur le plan général, en dehors de la chirurgie cardio-vasculaire et des centres d'hémodialyse, la fréquence de l'hépatite virale post-transfusionnelle varie dans de larges proportions suivant les auteurs, allant de 0,5 % pour Hassig et Coll. à 4,16 % pour Katz et Coll. au Chili.

b) - Fréquence de l'hépatite selon le sexe

Sur les 33 ictères de notre enquête, il y a 24 hommes pour 9 femmes. Cette majorité de malades du sexe masculin, corrigée en fonction du nombre d'hommes opérés (7,6 %) et de femmes opérées (3,8 %) reste néanmoins prépondérante.

Une telle prépondérance en fonction du sexe n'a pas été retrouvée dans la littérature. Mais dans l'interprétation des résultats de l'enquête ici effectuée il faut tenir compte que, parmi les opérés du sexe masculin, un nombre non négligeable de malades sont originaires d'AFN ou du Moyen Orient, ou -du moins- ont effectué un séjour dans ces pays d'endémie. L'hépatite pourrait se révéler dans les suites post-opératoires chez des sujets porteurs du virus, préalablement à l'intervention. En faveur de cette hypothèse, l'antigène Australia a été découvert tout récemment chez plusieurs futurs opérés provenant de ces régions (3 cas).

Par ailleurs, la notion d'une imprégnation éthylique a été retrouvée chez un certain nombre de malades.

c) - Fréquence de l'hépatite selon l'âge

Très peu d'enfants (4 soit 3,4 % sur 118 enfants opérés) ont présenté une hépatite transfusionnelle.

Ce fait est à rapprocher de certaines publications où l'hépatite post-transfusionnelle passe pour être bénigne ou même anictérique dans le jeune âge notam-

ment celle de Krugman et Coll. qui étudièrent à Willowbrook l'épidémiologie de cette affection et firent la preuve de la contamination orale, et celle de Chevallier et Durand précédemment citée qui observèrent sur 130 enfants suivis pendant 3 mois cliniquement et biologiquement 2 hépatites ictériques et 5 hépatites anictériques.

d) - Fréquence de l'hépatite selon le type d'intervention et la quantité de sang reçue

Parmi les malades opérés sans CEC (3 flacons de sang en moyenne) 3,6 % ont eu une hépatite transfusionnelle.

Parmi les malades opérés avec CEC (7 flacons de sang en moyenne) 6,8 % ont eu cette complication.

L'incidence de l'hépatite en fonction du nombre de flacons de sang reçus paraît confirmée par le plus grand nombre d'ictères survenus chez les sujets dont la CEC a été effectuée à l'aide d'un oxygénateur Kay-Cross (10 flacons de sang en moyenne) par rapport à ceux opérés à l'aide d'un oxygénateur de petit format type Rygg (6 flacons en moyenne).

Ce résultat est en désaccord avec la statistique d'Allen et Sayman (1962), selon laquelle la fréquence de l'hépatite est identique chez les sujets qui ont reçu respectivement 6 flacons et plus de 10 flacons de sang. Selon ces auteurs, la transfusion d'un grand nombre d'unités de sang bien qu'augmentant les risques de transmission du virus, n'accroît pas l'incidence de cette complication, en raison de la présence d'anticorps dans le sérum de certains donneurs.

e) - Fréquence de l'hépatite chez les sujets qui ont reçu des fractions sanguines

Les fractions sont préparées à partir du sang d'au moins 10 donneurs. On retrouve également un **fort** pourcentage d'ictères chez les sujets qui ont reçu une ou plusieurs fractions, en plus du sang total. On connaît d'ailleurs le pouvoir infectant du plasma, du fibrinogène, de la fraction anti-hémophilique et peut-être du PPSB (J.P. Soulier - 1969 -), alors que sérum - albumine et gamma-globuline seraient indemnes de cette complication. La préparation des premières de ces fractions, pourrait augmenter le risque de transmission de l'hépatite, en éliminant avec la fraction gamma-globulinique les anticorps actifs contre le virus de l'hépatite.

f) - Fréquence de l'hépatite en fonction du groupe sanguin

Certains auteurs, en particulier Lewkonja et Finn (1968) ont mis l'accent sur la fréquence de l'hépatite transfusionnelle chez les sujets appartenant à certains groupes sanguins. Ces auteurs ont noté une fréquence élevée de l'hépatite, en particulier des formes graves, chez les sujets de groupe O parmi les malades et le personnel d'une unité d'hémodialyse.

Une telle notion ne ressort pas de cette statistique, où, au contraire, 15 fois l'ictère est survenu chez des sujets de groupe A.

g) - Durée d'incubation

Elle est comprise entre 3 semaines et 8 mois dans cette étude, avec un maximum de fréquence au 3ème mois après l'intervention. Ceci est en accord avec les résultats de Krugman (1967) et ceux de J.P. Soulier (1967). Les rares cas d'ictère apparus entre le 20ème et le 40ème jour, posent le problème d'une transmission parentérale du virus A (ou MS₁).

Cette possibilité a été démontrée par les travaux de Krugman (1967).

Il faut aussi noter l'absence de relation entre d'une part le nombre de flacons injectés et le mode de contamination et d'autre part la durée de la période pré-ictérique.

h) - Evolution de l'hépatite

La durée de l'ictère excède rarement 6 semaines alors que celle de l'hépatite toujours plus longue, est difficile à préciser en l'absence de tests biologiques communiqués.

Il s'agit le plus souvent de formes bénignes guérissant spontanément et sans complications.

Dans deux cas (1 enfant de 8 ans opéré pour tétralogie de Fallot, 1 femme de 70 ans opérée pour la pose d'un Pace-Maker) la réapparition de l'ictère ou la nouvelle aggravation des signes biologiques dans les 30 à 40 jours suivant l'atteinte primitive ont été observées. Dans un cas, l'hépatite se prolonge de puis plusieurs mois, mais l'absence de recul ne permet pas de conclure au passage à la chronicité.

Deux fois, l'évolution a été mortelle en quelques jours vers le coma hépatique chez deux adultes. Almeida et Waterson (1969) tentent d'expliquer les différentes formes évolutives de la maladie en fonction de critères immunologiques. Ils émettent l'hypothèse que les formes graves seraient liées à une surproduction d'anticorps, l'excès d'anticorps produisant une réaction du type anaphylactique, analogue à celle observée au cours de la maladie sérique.

2°) FREQUENCE DU VIRUS CHEZ LES DONNEURS DE SANG

A - Immuno - Diffusion

Cette étude montre que l'Antigène Australia se retrouve avec une fréquence de 4,06 % en immuno-diffusion parmi les donneurs sains. Ces résultats sont en accord avec la majorité des publications.

Zuckerman (1969) trouve l'antigène Australia avec la même méthode 8 fois sur 4.844 donneurs, soit une fréquence de 2 %.

Par contre Gocke et Kavey (1969) l'ont mis en évidence 8 fois sur 1.726 donneurs, soit 5 %.

Quelques mois plus tard, ils publient avec Grenberg une statistique portant sur 2.211 donneurs avec 16 antigènes, soit 7,2 %.

Okuchi et Murakami (1968) au Japon dans une première statistique, montrent que 52 hommes sur 4.222 sont porteurs de l'antigène (soit 1,23 %) contre 2 femmes seulement sur 1.024 testées (soit 0,19 %).

Leur deuxième statistique totalise 11,820 donneurs ; l'antigène est présent dans 141 sérums soit 1,19 %.

Prince établit une fréquence de 1 % en retrouvant 3 antigènes sur 2.856 donneurs nouveaux.

J.P. Soulier au C.N.T.S. le détecte 15 fois sur 2.741 sérums soit 5 %.

Quant à l'anticorps, sa fréquence est moindre dans cette étude comparative-ment à l'antigène. Ceci est en accord avec les résultats antérieurement publiés, en particulier ceux de J.P. Soulier (1970).

B - Fixation du complément

La plus forte proportion de résultats positifs en micro-méthode peut s'expliquer soit par une plus grande sensibilité de ce mode opératoire, soit par les modifications apportées au protocole de cette technique.

On ne peut comparer, dans cette étude, les fréquences relatives observées en macro et en micro-méthode, puisque les proportions des réactifs (complément, sérums et globules rouges) sont différentes.

L'avantage incontestable de la micro-technique reste l'économie considérable de sérum - anticorps qu'elle réalise par rapport à la macro-technique et à l'immuno-diffusion.

Certaines causes d'erreur restent à préciser : si l'on a pu constater que les anticorps antileucoplaquettaires fixant le complément n'interféraient pas dans le dépistage de l'antigène Australia, il reste à prouver que des agglutinines anti-A puissantes, (réagissant avec le sérum à tester ou le sérum anticorps) ne peuvent favoriser l'apparition de fausses réactions positives (en particulier, les réactions faiblement positives).

Quoiqu'il en soit, la plus grande sensibilité, et de beaucoup, de la technique de fixation du complément a été constatée par différents auteurs, en particulier Shulman (1969) et J.P. Soulier (1969) pour le dépistage de l'antigène.

En définitive, la fréquence de l'antigène chez les sujets normaux varie dans des proportions appréciables suivant les races examinées et les techniques de dépistage utilisées. En France, il semble que la moyenne se situe aux alentours de 5 à 6 %, en fonction des résultats, publiés ou non, des différentes équipes.

Ces porteurs de virus sont systématiquement évincés du don du sang, mais la question reste posée de savoir si cette attitude permettra d'éliminer totalement le risque d'hépatite transfusionnelle. En effet, d'une part la sécurité et la sensibilité des techniques ne sont pas encore établies de façon absolue. D'autre part, l'existence d'une virémie transitoire a été prouvée (Blumberg) ce qui nécessite la répétition des examens lors de chaque don du sang.

Quant à l'éviction basée sur les antécédents d'ictère, elle est totalement inefficace, puisque la fréquence de l'antigène n'est pas supérieure chez ces sujets (J.P. Soulier - 1970 -).

C O N C L U S I O N S

oooooooooooooooooooooooooooo

Le présent travail concerne l'appréciation de la fréquence de l'hépatite virale dans les suites des interventions de Chirurgie Cardio-Vasculaire. Par ailleurs, des tests récents ont permis d'établir la fréquence du virus de l'hépatite chez les donneurs de sang participant à l'alimentation des circuits extra-corporels et à la réanimation des opérés à "coeur ouvert".

La première statistique concerne 550 malades opérés en 1969 dans le service du Professeur Dubost. Tous ces sujets ont reçu au moins 1 flacon de sang et au plus 21 flacons (moyenne : 8 à 10 flacons). La grande majorité a été opérée sous circulation extra-corporelle, la moitié avec un oxygénateur de type Kay-Cross de grande capacité (6 à 8 flacons de sang) et l'autre moitié avec des oxygénateurs de petit format en feuille plastique (type Rygg, et exceptionnellement Travenol ou Bentley) (moyenne 2 à 3 flacons de sang).

39 cas d'ictère ont été signalés parmi 550 réponses, soit 7 % des sujets opérés. 4 cas ne correspondent pas à une hépatite virale, l'ictère très fugace étant apparu dans les 2 à 5 jours suivant l'intervention. 35 ictères sont apparus au minimum 3 semaines et au maximum 8 mois après l'intervention (en moyenne 2 à 4 mois). Dans deux cas, les malades avaient été en contact avec des sujets atteints d'hépatite de type "épidémique" avant l'apparition de l'ictère. Dans les 33 cas restants, aucune contagion connue n'a été retrouvée dans les suites de l'intervention et la transmission du virus de l'hépatite par le sang ou ses dérivés paraît donc la cause la plus vraisemblable. La fréquence de l'hépatite ictérogène dans les suites des interventions cardiaques s'établit donc aux environs de 6 % sans tenir compte des formes anictériques ou inapparentes cliniquement.

- Aucune relation n'a pu être établie entre d'une part le nombre d'unités de sang reçues, et d'autre part la durée d'incubation et la gravité de l'évolution.
- Ni le groupe sanguin, ni l'affection en cause ne paraissent modifier la fréquence de cette complication ; par contre, le nombre d'ictères est plus grand dans la série de sujets opérés à l'aide d'un oxygénateur Kay Cross que dans la série de sujets opérés à l'aide d'un oxygénateur en feuille plastique (quantité de sang supérieure, dérivés du sang plus fréquemment employés dans la première série).

La durée de l'ictère a été habituellement comprise entre 3 semaines et 2 mois et son intensité généralement modérée. Cependant, dans 2 cas l'évolution a été rapidement fatale (en quelques jours). Enfin dans 4 cas, l'ictère s'est prolongé pendant plus de 3 mois.

Les transaminases SGOT et SGPT ont été constamment élevées (supérieures à 200 unités) dans tous les cas d'ictère où elles ont été dosées.

En définitive, la fréquence de cette complication et l'évolution fatale possible justifient la recherche du virus de l'hépatite dans le sang des donneurs, puisque la simple exclusion des donneurs ayant présenté un ictère dans leurs antécédents s'est révélée insuffisante pour prévenir cette complication dans cette série d'interventions.

La recherche de l'antigène Australia, identifié, par Blumberg en particulier, au Virus de l'hépatite transfusionnelle a donc été appliquée au dépistage des porteurs de virus parmi les donneurs de sang participant aux C E C.

Deux techniques ont été employées simultanément : l'immuno-diffusion en gelose selon la méthode préconisée par Prince et la réaction de fixation du complément (Shulman). A ce jour, 11 antigènes ont été retrouvés contre 2 anticorps spécifiques parmi 2.730 sérums testés en immuno-diffusion (soit une fréquence de 4,06 ‰). En fixation du complément 9 antigènes ont été découverts sur 1.676 tests effectués en macro-méthode (soit une fréquence de 5,03 ‰).

Dans un petit nombre de cas, le pouvoir anti-complémentaire du sérum a rendu impossible l'interprétation de la réaction. La micro-méthode de fixation du complément sur plaques de Terasaki paraît beaucoup plus sensible que la macro-méthode en tubes à hémolyse (fréquence de l'antigène 10,8 ‰), mais certaines causes d'erreur restent à préciser.

La fréquence de l'antigène n'a pas paru significativement différente parmi les donneurs ayant présenté des antécédents d'ictère et parmi les sujets indemnes.

La réaction de fixation du complément s'est révélée positive chaque fois que l'immuno-diffusion était positive, par contre, des réactions positives en fixation du complément n'ont pas été retrouvées en immuno-diffusion.

Cette différence semble due à la sensibilité plus grande de la réaction de fixation du complément, comme en témoignent les titres beaucoup plus élevés des antigènes et des anticorps dans cette méthode. La concentration des sérums positifs seulement en fixation du complément permettrait sans doute de retrouver l'antigène dans un grand nombre de cas.

L'anticorps anti-Australia a été retrouvé dans une proportion légèrement inférieure à l'antigène, mais sa puissance est habituellement faible.

En conclusion, associée ou non à l'éviction des sujets ayant présenté un ictère dans leurs antécédents, la recherche systématique de l'antigène Australia chez les donneurs de sang devrait diminuer considérablement la fréquence des hépatites pos-transfusionnelles. Par ailleurs, la préparation de γ -globulines spécifiques à partir de sujets possédant l'anticorps anti-Australia apporterait sans doute une protection et une thérapeutique efficace de cette complication majeure des transfusions de sang ou de ses dérivés.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Le Recteur de
l'Académie de PARIS

M. MILLET

Le Doyen Honoraire
Administrateur provisoire
de la Faculté de Médecine

G. BROUET

Le Président de
la Thèse

CH. DUBOST

BIBLIOGRAPHIE

oooooooooooooooooooooooooooo

- ALLEN J.G., SAYMAN W.A., J. Amer. Med. Ass. 1962, 180, 13, 1079
- ALMEIDA J.D. et WATERSON A.P., Lancet 1969, 2, 983
- ALTER H.J., BLUMBERG B.S. : Blood, 1966, 27, 3, 297
- BAYER M.E., BLUMBERG B.S., WERNER B. : Nature, 1968, 218, 5146, 1057
- BLUMBERG B.S., ALTER H.J., VINISH S., J. Am. med. ass. 1965, 191, 541
- BLUMBERG B.S., GERSTLEY B.J.S., HUNGERFORD D.A., LONDON W.T., SUTNICK A.T.
Ann. Int. Med. 1967, 66, 924
- BLUMBERG B.S., SUTNICK A.T., LONDON W.T., J. Amer. Med. Ass. 1969, 207, 10, 1895
- CHEVALLIER J. et DURAND M. - Presse Médicale 1967, 8, 75, 385
- GILES J.P., KRUGMAN S. : J. Amer. Med. Ass. 1969, 3, 208, 497
- GOCKE D.J., GREENBERG H.B., KAVEY N.B. : Lancet, 1969, 2, 7614, 248
- GOCKE D.J., KAVEY N.B. : Lancet, 1969, 1, 7605, 1055
- HASSIG A. : Schw. Med. Wschr 1953, 83, 21, 487
- HIRSHMAN R.J., SHULMAN N.R., BARKER L.F., SMITH K.O. : J. Am. Med. Ass. 1969, 208, 1667
- HOLLAND P.V., WALSH J.H., MORROW A.G., PURCELL R.H. : Lancet, 1969, 2, 7620, 553
- KRUGMAN S., GILES J.P. : J. Am. Med. Ass. 1967, 200, 95
- LEWKONIA R.M., FINN R. Brit. Med. J. 1969, 3, 5665, 268
- LEVENE, BLUMBERG B.S. : Nature, 1969, 221, 5176, 195
- LONDON W.T., DI FIGLIA M., SUTNICK A.T., BLUMBERG B.S. : New England J. Med. 1969,
281, 11, 571
- LONDON W.T., SUTNICK A.T., BLUMBERG B.S. : Ann. Intern. Med. 1969, 70, 1, 55 - 60
- LÜRMAN A., Berl. Klin. Wschr : 1885, 22, 20
- MELERTIN L., BLUMBERG B.S., Nature, 1966, 210, 5013, 1340
- MILLMAN I., ZAVATONE V., GERSTLEY B.J.S., BLUMBERG B.S. : Nature, 1969, 222, 5189, 181
- OKOCHI D., MURAKAMI S. : Vox Sang. 1968, 15, 374
- PRINCE A.M. : Proc. Nat. Acad. Sci. 1968, 60, 814
- PRINCE A.M. : New Engl. J. Med. 1969, 280, 11, 617
- SHULMAN N.A., BARKER L.F. : Science 1969, 165, 304
- SHARP A.A., EGLETON M.J., J. Clin. Path. 1963, 16, 551
- SOULIER J.P. : Revue Française de Transfusion 1969, 12, 1, 45

Bibliographie (suite)

SOULIER J.P. : Revue Française de Transfusion 1969, 12, 3, 303 et 361

SOULIER J.P. : Presse médicale 1970, 11, 78, 485

STEWART, ANDERSON, FLEMING, STERN : Lancet, 1967, 1, 7496, 952

SUTNICK A.T., LONDON W.T., BAYER, BLUMBERG B.S. : Gastroenterology 1968, 54, 1275

SUTNICK A.T., LONDON W.T., GERSTLEY B.J.S., BLUMBERG B.S. : J. Amer. Med. Ass. 1968,
205, 10, 670

ZUCKERMAN : Nature 1969, 223, 5206, 569

oooooooooooooooo

